

Кафедра микробиологии и вирусологии

Е.А. Зайцева, Р.Н. Диго

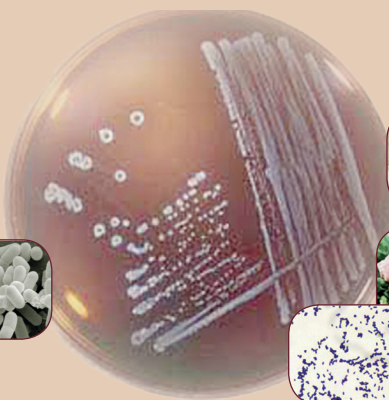
Листериоз

методы лабораторной диагностики

Учебное электронное издание

Учебное пособие

2-е издание, переработанное и дополненное



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Тихоокеанский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кафедра
микробиологии и вирусологии

Е.А. Зайцева, Р.Н. Диго

ЛИСТЕРИОЗ: методы лабораторной диагностики

Учебное электронное издание

Учебно-методическое пособие

2-е издание, переработанное и дополненное

Владивосток
2017

УДК 616.98:579.8 69.1-078(075)
ББК 55.14я7
3177

Издано по рекомендации редакционно-издательского совета ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России

Рецензенты:

Чубенко Г.И., доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой микробиологии, вирусологии Амурской государственной медицинской академии (Благовещенск);

Федянина Л.Н., доктор медицинских наук, профессор кафедры фундаментальной медицины Школы биомедицины Дальневосточного федерального университета (Владивосток)

Авторы:

Зайцева Е.А., д.м.н., доцент, профессор кафедры микробиологии и вирусологии Тихоокеанского государственного медицинского университета (Владивосток)

Диго Р.Н., к.м.н., доцент, доцент кафедры микробиологии и вирусологии Тихоокеанского государственного медицинского университета (Владивосток)

Зайцева Е.А. Листериоз: методы лабораторной диагностики [Электронный ресурс] : учебно-методическое пособие / Зайцева Е.А., Диго Р.Н., : Тихоокеан. гос. медицинский ун-т. – Изд. 2-е, перераб. и доп. – Электрон. дан. – Владивосток : Медицина ДВ, 2017. – 168 с.]. 1 электрон. опт. диск (CD-ROM) ; 12 см. – Системные требования: ПК процессором с частотой 1,3 ГГц Intel или AMD ; 256 Мб ОЗУ ; Windows XP ; CD-ROM-дисковод ; мышь ; Acrobat Reader, Foxit Reader либо любой другой их аналог.

ISBN 978-5-98301-103-8.

Настоящее учебно-методическое пособие разработано на основе современных протоколов, приказов МЗ РФ, результатов исследования отечественных и зарубежных ученых в соответствии с учебными программами и нормативными требованиями Федерального государственного образовательного стандарта.

В пособии представлены материалы о современных и классических методах, используемых для выявления, идентификации и типирования листерий. Изложены сведения о микроскопии бактерий, методах типирования для выявления морфологических и культуральных особенностей листерий, представлены современные требования и рекомендации по теоретическим аспектам и практической значимости бактериологического метода диагностики листериоза в клинической практике.

Учебно-методическое пособие предназначено для врачей-бактериологов, биологов, обучающихся в системе послевузовского профессионального образования по разделу «Санитарно-бактериологические исследования пищевых продуктов», «Пищевые отравления микробного происхождения», а также специалистам смежных областей, которым приходится работать с этими микроорганизмами.

ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России
690600, Владивосток, пр. Острякова, 2

Издательство «Медицина ДВ»
690600, г. Владивосток, пр. Острякова, 4

Изготовитель CD-ROM
типография Дирекции
публикационной деятельности ДВФУ
690950, Владивосток, ул. Пушкинская, 10

Издание подготовлено
редакционно-издательским отделом ТГМУ

Научный редактор *В.М. Черток*
Верстка *Т.Л. Пинчук*

Опубликовано 31.01.2017. Формат PDF,
объем 11,5 МБ [Усл. печ. л. 21,00],
тираж 100.

ISBN 978-5-98301-103-8

© Зайцева Е.А., Диго Р.Н., 2017
© ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России, 2017



Введение

В настоящее время листериоз пока еще остается малоизвестен в практическом здравоохранении, хотя история изучения возбудителя насчитывает более ста лет. Эта инфекция встречается на всех континентах, в странах с различными социально-экономическими и климатическими условиями.

До 80-х гг. XX столетия листериоз не привлекал к себе большого внимания исследователей, поскольку заболеваемость им была не высокой, проявляющаяся в разных странах несколькими десятками случаев в год.

Положение с заболеваемостью листериозом коренным образом изменилось в 80-х гг., когда в передовых зарубежных странах (США, Великобритания, Франция, Испания, Италия, Германия и др.) начали возникать эпидемические вспышки листериоза пищевого происхождения с тяжелым клиническим течением и летальностью до 24-40%.

В Российской Федерации заболеваемость листериозом официально регистрируется с 1992 года и до настоящего времени продолжает оставаться не на высоком уровне, выражающемся 40-100 случаями в год при отсутствии эпидемических вспышек. В связи с тем, что листериоз является в настоящее время все еще редко диагностируемым заболеванием и не всегда регистрируется, истинная распространенность этой инфекции среди людей неизвестна.

Редкая регистрация листериоза связана с недостаточным уровнем как клинической, так и лабораторной диагностики. Этим в значительной мере объясняется актуальность проблемы листериоза. Кроме того, актуальность проблемы листериоза связана с увеличением количества иммуносупрессивных больных, людей со сниженным Т-клеточным звеном иммунитета, которых наиболее часто поражает этот возбудитель. Прежде всего, это – беременные женщины; люди, страдающие онкологическими заболеваниями; инфицированные вирусом

иммунодефицита (ВИЧ-инфекция); лица, длительное время получавшие антибактериальные, кортикостероидные препараты; люди пожилого и старческого возраста, у которых регистрируются наиболее тяжелые формы болезни – септическая и менингоэнцефалитическая; дети до 1 года. В последние годы категорию риска дополняет большая группа молодых лиц – наркоманов, зависимых от внутривенно вводимых наркотиков. Во всех этих случаях присоединяющийся листериоз часто является последним звеном, приводящим к смертельному исходу. Поэтому в России возникла естественная необходимость активизировать работу по лабораторной диагностике листериоза и усилить ее в направлении повышения уровня профилактики инфекции.

В этой связи в настоящий момент становится весьма актуальным применение и усовершенствование селективных, дифференциальных питательных сред для изоляции и идентификации листерий из биологических материалов и окружающей среды, для разработки новых подходов к их типированию с целью выявления наиболее значимых, вирулентных штаммов листерий в инфекционной патологии. Представленные в данном учебном пособии материалы способствуют решению этих вопросов. Эти материалы включают цветные фотографии различных сред, рекомендованных ГОСТ и международным стандартом ISO 11290-1 для изоляции и типирования листерий, широко используемых в настоящее время, как в нашей стране, так и за рубежом, а также собственных авторских сред и разработок.

Современные представления о листериозе

Эпидемические аспекты листероза

Бактерии рода *Listeria* широко распространены в природе. Эти микроорганизмы, обладая широкими адаптационными возможностями, способны обитать как в организме человека и теплокровных животных, так и в разнообразных объектах окружающей среды (в почве, воде, растениях).

Возбудитель листериоза хорошо адаптирован к влажным, богатым гумусом почвам с реакцией среды близкой к нейтральной. Листерии активно размножаются в почве весной и осенью. Зимнее промерзание почвы не оказывает отрицательного влияния на их жизнеспособность, а высокие летние температуры возбудитель может переживать в L- и R-формах.

Обладая значительными экологическими возможностями, листерии имеют широкий круг хозяев, существенно отличающихся друг от друга как филогенетически, так и экологически.

Листерииозный микроб выделен из различных видов диких и домашних млекопитающих – овец, коз, крупного рогатого скота, свиней, лошадей, собак, кошек, птиц, рыб, ракообразных, членистоногих и насекомых. Они найдены у зайцев, леммингов, лисиц, песцов, енотов. Чаще всего *L. monocytogenes* обнаруживают у овец, реже у свиней и крупного рогатого скота. Отмечено, что лошади могут быть носителями не только *L. monocytogenes*, но и других видов листерий. Животные заражаются через воду и корма, инфицированные листериями, от грызунов или их трупов. Определенную роль в поддержании стационарных очагов болезни играют кровососущие насекомые, особенно пастбищные клещи. Заражаясь от грызунов и других боль-

ных животных, они способствуют распространению инфекции, передавая бактерии другим животным.

Листерии могут персистировать в кишечнике практически здоровых людей и животных (от 5 до 90% особей являются носителями микроба). В результате широкого распространения в природе, листерии стали частью микробной экосистемы окружающей среды в местах приготовления и обработки пищевых продуктов, и поэтому они могут попадать в различные продукты питания, а, следовательно, в организм человека.

Листерииоз до 1960 г. у людей был редкостью. Однако в 80-х годах 20-го столетия о листериозе стали говорить как о пищевой инфекции. Были зафиксированы крупные вспышки листериоза людей с высоким процентом смертельных исходов (30-40%) при употреблении пищевых продуктов животного и растительного происхождения. С этого времени ежегодно в мире регистрируются тысячи заболевших листериозом. В настоящее время эта инфекция встречается на всех континентах земного шара, о чем свидетельствуют заболевания людей в Европе, Азии, Африке, Южной и Северной Америке.

Отчасти это связано с изменением рациона питания, появлением новых технологий, связанных с производством «удобных продуктов питания», которые не всегда гарантируют санитарное качество данного вида пищи. Нельзя исключить и еще одну причину распространения данного заболевания – постоянно разрастающуюся сеть пунктов общественного питания – кафе, ресторанов, закусочных, столовых, бистро и др. Еще одна реальная причина возможного создания очага листериоза – это бесконтрольное использование стоков мясоперерабатывающих предприятий, использование органических удобрений от животных, являющихся носителями листерий и т.д.

Выявлены спорадические случаи листериоза человека, а также отдельные локальные вспышки этого заболевания и случаи контаминации листериями продуктов питания в ряде стран Африки, Азии и Южной Америки. В США ежегодно диагностируется около 1850 спорадических случаев. Чаще всего их обнаруживают у детей до одного года (более 50%) и у лиц старше 60 лет (около 30 %). В Великобритании ежегодно выявляют около 300 случаев листериоза как среди взрослых, так и среди новорожденных.

Широкое распространение листерий в объектах окружающей среды, многообразие клинических проявлений затрудняют установление этиологии и проведение эпидемиологического анализа спорадических случаев листериоза.

Из шести известных видов листерий потенциально патогенными для человека и животных в настоящее время считаются два – *L. monocytogenes* и *L. ivanovii*.

Механизмы заражения людей многообразны. Заражение человека листериями происходит преимущественно алиментарным путем через различные продукты питания (сыры, молоко, мясо, рыбу, овощи и т.д.) на любом этапе их получения, обработки и хранения без участия животных в цикле передачи.

Описаны 4 крупные вспышки листериоза в мире – в Новой Шотландии (Канада, 1981), Бостоне (США, 1983), Лос-Анджелесе (США, 1985) и кантоне Во (Швейцария, 1983-1987). В Новой Шотландии, Лос-Анджелесе и кантоне Во была установлена эпидемиологическая связь вспышки листериоза, подтвержденной бактериологическими исследованиями, с определенным пищевым продуктом (с шинкованной капустой, мягким сыром типа мексиканских сыров и сортом «вашерин»), которые показали, что фактором передачи листериоза человека могут быть различные продукты питания и их контаминация может происходить самыми разными путями.

Листерии обнаружены в молоке и молочных продуктах, мясе животных и птиц, овощах, салатах и морских продуктах. Ведущую роль среди них играют молочные продукты, главным образом непастеризованное или некачественно пастеризованное молоко и изготовленные из него мягкие и рассольные сыры.

Из всех пищевых продуктов именно сыры чаще всего заражены листериями и представляют наибольшую опасность как фактор передачи инфекции для человека. Наиболее часто листерии выделяли из определенных видов сыров: сыров с красной слизью; твердых сыров, особенно белых ноздреватых, покрытых красной оболочкой, и, так называемых, «сыров с голубой плесенью». Сливочное масло также может обеспечивать среду для сохранения и роста бактерий рода *Listeria*, включая *L. monocytogenes*.

К числу субстратов, способствующих поддержанию роста *L. monocytogenes*, которые попадают из окружающей среды, относят-

ся нарезанные овощи, мягкие сыры, поверхность мясных продуктов. Из овощей листерии чаще контаминируют картофель и редис.

Многочисленные случаи выделения (15-20%) листерий установлены из сырого мяса забитых животных (говядины, свинины, баранины) и домашней птицы (15-80%). В последнее время *L. monocytogenes* обнаружены в вареных сосисках, сыровяленых и сырокопченых мясопродуктах, готовых к употреблению продуктах из птицы, полуфабрикатах для еды «быстрого приготовления».

L. monocytogenes выделяются из широкого спектра морепродуктов – замороженных креветок, лобстеров, консервированного и свежего крабового мяса, копченой и маринованной рыбы и т.д. Живая рыба может заражаться патогенными листериями в местах естественного обитания в экологически неблагополучных районах, где сточные бытовые воды и стоки животноводческих ферм, содержащих листерии, сбрасываются без очистки непосредственно в районы вылова рыбы. Тепловая обработка рыбного сырья позволяет освободить его от патогенных листерий. Однако при холодном копчении соль и копильный раствор способствуют размножению листерий. Поэтому чаще всего *L. monocytogenes* выделяются из рыбы холодного копчения. Причиной высокой степени зараженности конечной продукции копильных производств является и вторичная контаминация рыбы на производстве в ходе технологического процесса.

Выделен ряд продуктов, где листерии не обнаруживаются – йогурты (промышленного производства), твердые сыры, шоколад, мармелад, печенье, сырые яблоки и томаты.

К настоящему времени выявлены и изучены далеко не все пищевые продукты, которые могут служить потенциальными источниками заражения, и далеко не все возможные механизмы контаминации этих продуктов.

Кроме пищевого возможен аэрогенный путь заражения, происходящий при обработке животного сырья (шерсти, щетины, кожи, шкур, пера, пуха). Встречается контактный путь передачи листерий, осуществляемый через порезы и ссадины на коже при попадании в них различных выделений больных животных. Возможна передача бактерий от человека к человеку, описаны случаи заражения половым путем. С 90-х годов 20 века листериозную инфекцию стали рассматривать, как внутрибольничную инфекцию.

Наибольшему риску заражения листериозом подвергаются беременные женщины, их плоды и новорожденные. Беременные женщины заболевают листериозом в 20 раз чаще, чем другие здоровые люди, и около 35% всего зарегистрированного листериоза наблюдалось во время беременности. Риск развития листериоза более высок при многоплодной беременности. Считают, что листерии имеют своеобразный тропизм к мочеполовой системе женщин и, особенно к тканям эмбрионов.

Большую опасность листериоз представляет для лиц с низкими показателями Т-клеточного звена иммунитета, при этом 90% заболевших нуждаются в госпитализации. Это, прежде всего – люди, страдающие онкологическими заболеваниями; инфекцией, вызванной вирусом иммунодефицита (ВИЧ); лица, длительное время получавшие антибактериальные, кортикостероидные препараты и др. Чаще листериозом болеют люди с нарушениями иммунитета в результате предшествующих болезней. В последние годы категорию риска дополняет большая группа молодых лиц – наркоманов, зависимых от внутривенно вводимых наркотиков. Во всех этих случаях присоединяющийся листериоз часто является последним звеном, приводящим к смертельному исходу. Однако это не означает, что не могут поражаться и другие категории людей. Важно отметить, что наблюдаемое в последнее время увеличение доли лиц пожилого возраста и людей с той или иной формой иммунной недостаточности приводит к увеличению числа тех, кто относится к группе повышенного риска заражения листериозом.

Заболеваемость листериозом может носить профессиональный характер среди работников животноводческих и птицеводческих хозяйств, а также цехов первичной переработки на мясо- и птицекомбинатах. К группе риска следует отнести звероводов, пастухов, чабанов, зооветперсонала, которые заражаются листериями в процессе ухода за больными животными, помощи при родах, соприкосновения с абортированными плодами и т.д.